

## Bölüm 15

# DIŞ ÇÜRÜĞÜNÜN POTANSİYEL BİYOBELİRTEÇLERİ

Ahmet Ercan HATAYSAL<sup>1</sup>

Diş çürükleri, dünya nüfusunun büyük bir bölümünü etkileyen yaygın bir inflamatuvar hastalıktır. Araştırmalar, diş çürüğünün bakteriyel bir enfeksiyon sonucu oluştuğunu, ancak aynı zamanda konakçı ve diyet faktörlerinden de etkilendiğini göstermektedir. Çürük için risk faktörlerini tanımlamak ve çürük gelişimini önleyebilecek oral savunma mekanizmaları belirlemek için özellikle son dönemde tükürükteki biyobelirteçleri de dahil eden çalışmalar yapılmaktadır. Tükürük, ağız ortamı için birincil savunma sistemidir ve açıkta kalan diş yüzeylerini korumak için özellikle önemlidir. Tükürük yapısında birçok savunma faktörü bulundurmaktadır. Bu savunma mekanizmaları, basit mekanik durulama, tamponlama etkisi ve kalsiyum fosfat bağlayıcı proteinler gibi diş yüzeylerinin demineralizasyonunu engelleyen faktörlerin yanı sıra mikroorganizmaların agregasyonunun engellenmesi, ağız boşluğundan temizlenmesi ve immünglobülin A gibi antimikrobiyal proteinlerin salgılanmasını içerir. Diş yüzeyi, müsinler ve prolinden zengin glikoproteinler gibi tükürük proteinleri tarafından oluşturulan bir film ile korunur. Prolinden zengin proteinler, kalsiyumu çekme yeteneği nedeniyle minerin remineralizasyonuna yardımcı olur (1). Bu tükürük proteinleri, bakteriyel agregasyonun ve tutunmanın önlenmesi, metabolizmalarının inhibisyonu ve bakteriyel hücre ölümüyle sonuçlanan çoğalma gibi çeşitli mekanizmalar aracılığıyla karyojenik bakterilerle etkileşime girer.

Tükürük, yapısındaki bileşenler sayesinde sistemik hastalıkların araştırılmasına ve genel sağlığın izlenmesine kapı açar. Tükürük, hızlı ve kolay toplanabilir olduğundan ve tükürük bezlerinin damar ağı sayesinde serumda bulunan molekülleri de yapısında içerdiği için sistematik hastalıkların tanısında kullanılabilir. Tükürük, kalıtsal hastalıklar, otoimmün hastalıklar, kanserler, bazı bulaşıcı hastalıklar, endokrin bozuklukların teşhisinde, ilaç ve yasadışı uyuşturucuların düzeylerinin izlenmesinde kullanılabilir (2, 3).

---

<sup>1</sup> Uzm.Dt, Bozuyük Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi Restoratif Kliniği, dterjan@gmail.com,

## **1. İMMÜNOGLOBULİN A**

Ağız içi antijenlere karşı ilk bağışıklık savunması tükürük antikoları tarafından yapılır. Tükürük immünoglobulinleri, tükürük bezlerinin stromasında olan plazma hücreleri tarafından üretilir (4). Tükürüğün ana tükürük immünoglobulini, yapısal olarak tükürük içine salgılanan ve epitel hücrelerine bakteriyel yapışmayı inhibe etme kabiliyeti nedeniyle mikrobiyal istilaya karşı ilk savunma hattı olarak kabul edilen immünoglobulin A'dır (IgA) (5). IgA, diş çürüğünün patogeneğinde önemli bir rol oynar, spesifik bakteriyel proteinlerine bağlanır ve sonuç olarak bakteriyel enzimlerin ve toksinlerin aglütinasyonuna ve inaktivasyonuna yol açar. IgA komplemanı aktive edemez ancak polimerizasyon durumunda alternatif yol ile kompleman sistemini aktive edebilir. Ek olarak, bakterilerin hidrofobikliğini azaltarak bakteri yapışmasının inhibisyonunu destekler.

Sistemik veya immünolojik hastalığı olmayan kişilerde normal tükürük IgA seviyesi 4-30 mg/dL arasında değişmektedir (6). Bu seviye, yetersiz beslenme, obezite, enfeksiyonlar, stres, sigara içme, tükürük akış hızı, hormonal faktörler, duygusal durumlar ve fiziksel aktivite gibi durumlarda değişebilir (5, 6). İleri yaşta azalmış IgA seviyesi, artmış kök çürüğü insidansı ve kandidiyaz ile ilişkilidir (7).

Son yıllarda, birçok çalışma tükürük IgA seviyeleri ve diş çürüğü arasındaki ilişkiyi değerlendirmiştir, ancak çalışmaların sonuçları birbiriyle büyük farklılıklar göstermektedir. Chawda ve ark. yaptıkları çalışmada, diş çürüğü olmayan çocuklarda aktif çürüğü olan diğer gruplara göre IgA'nın tükürük konsantrasyonunun daha yüksek olduğu göstermiştir ve tükürük IgA antikolarlarının diş çürüğü oluşumuna karşı immün yanıtta doğrudan önemli bir rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir (6). Omar ve arkadaşları da, diş çürüğü olan çocuklarda tükürük IgA düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu, diş çürük sayısının artmasıyla tükürük IgA düzeylerinin düştüğünü bildirmiştir (8). Geniş bir grubu kapsayan meta analiz sonuçları bu makalelerle benzer şekilde, diş çürüğü ile tükürük IgA seviyeleri arasında ters ilişki göstermiştir (9). Bu durum, IgA'nın çürük oluşumuna karşı koruyucu bir bağışıklık tepkisi ile açıklanabilir. Genel olarak, IgA seviyelerinin DMFT indeksi (çürük, kayıp, dolgulu dişler indeksi) ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir, bu da tükürük IgA'nın diş çürüklerine karşı koruyucu bir rolü olduğunu düşündürür.

Bu çalışmaların aksine, tükürükte IgA'nın diş çürüğü olan grupta daha yüksek konsantrasyonda bulunduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (10, 11). Tükürük IgA'nın diş yüzeyine bakteriyel yapışma sürecini inhibe etmesi, bazı enzimleri ve karyojenik bakterilerin bakteriyel toksinlerini nötralize etmesi ve çü-

rük önleyici etkilere sahip olabilen laktoferrin veya lizozim gibi diğer tükürük proteinleri ile sinerji oluşturarak etki ettiği düşünülmektedir (9). Buna karşılık, başka bir teori, tükürük IgA seviyelerindeki farklılıkların çürük duyarlılığı ile hiçbir ilgisi olmadığını öne sürmektedir. Tükürük IgA, mikrobiyal kolonizasyonu inhibe eder ve mikrobiyal enzimleri veya toksinleri nötralize eder. Tükürük IgA antikoru, glikoziltransferazı (GTF) nötralize ederek Streptococcus Mutans'ın kolonizasyonunu önleyebilir, böylece GTF'nin Streptococcus mutans ile bağlanma oranını azaltarak diş çürüğünün gelişimini inhibe edebilir (12). Diğer bir potansiyel mekanizma, tükürük IgA'sının sinerji oluşturabilmesi ve laktoferrin ve peroksidaz sisteminin bakteriyostatik etkisini destekleyebilmesidir, bu da tükürük IgA'sı ile çürük arasındaki korelasyonu açıklayabilir (9, 13).

## **2. MÜSİNLER**

Müsinler, submandibular, sublingual, labial ve palatinal minör tükürük bezleri tarafından üretilen glikoproteinlerdir (14). İnsan vücudunda gastrointestinal sistem ve solunum yolu gibi epitel yüzeylerini kaplayan en az 20 tanımlanmış müsin vardır. Bu proteinler, tüm mukozal yüzeyi minimum 10-22µm kalınlığında viskoelastik bir tabaka ile kaplayan mukusun ana bileşenleridir. Bu tabaka, mikroorganizmaları ve antijenleri içerisinde hapseder ve bunlar daha sonra tükürük akışının ve yutmanın etkisi ile elimine edilir. Lizozim, IgA ve sistatin gibi oral mukozadaki diğer antimikrobiyal proteinlerin konsantrasyonunda önemli bir role sahiptirler. Müsinler, diş yüzeylerinden elde edilen pelikülda bulunur ve diş yüzeyini demineralizasyondan korur.

Tükürük, yüksek moleküler ağırlıklı müsin glikoprotein-1 (MG1 veya MUC5b) ve düşük moleküler ağırlıklı müsin glikoprotein-2 (MG2 veya MUC7) olmak üzere baskın olarak iki tür müsin içerir. MUC5b, 1000 kDa'dan daha büyük bir moleküler ağırlığa sahipken, MUC7, 180-200 kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahiptir (15). MUC7, esas olarak monomerler veya dimerler olarak bulunan ve jel benzeri yapıları oluşturma özellikleri olmayan bir müsinidir. MUC5B, submandibular, sublingual, palatin ve labial tükürük bezlerindeki mukus hücreleri tarafından salgılanan, ağızda esas jel benzeri yapıyı oluşturan, ağızdaki baskın tip müsinidir (16). Müsinler, ağız yüzeylerinin korunmasında önemli bir işlev sahibi olan proteinlerdir. Seviyeleri düştüğünde diş çürüğü prevalansının arttığı gerçeğinin gösterdiği gibi, demineralizasyon ve remineralizasyon süreçlerini de kontrol ederler (17). MUC7 ve MUC5B, ağızdaki enfeksiyöz etkenler ile etkileşime girerek onların uzaklaştırılmasını kolaylaştırır ve/veya patojenitelerini azaltır. MUC7 ve MUC5B, antibakteriyel tükürük proteinlerine bağlanarak, bu proteinlerin biyolojik aktivitesini artırabilir. Submandibular bez tarafından salgılanan proteinlerin

MUC7 ile ilişkisi incelendiğinde, asidik ve bazik prolinen zengin proteinler, staterinler ve histatin-1'in, MUC7'nin N-terminal bölgesine bağlandığını raporlanmıştır (18). Bu proteinlerin tümü antimikrobiyal özelliklere sahiptir; bu nedenle tükürükteki mevcudiyetlerini artırmak ağız sağlığına faydalı olabilir. MUC5B'nin ayrıca MUC7 ile aynı tükürük proteinleri ile heterotipik kompleksler oluşturduğu belirtilmiştir (19).

Müsinlerin diş çürüklerine karşı koruyucu rolü çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. MUC5B, Streptococcus Mutans'ın tutunmasını engelleyerek ve biyofilm oluşumunu azaltarak diş çürüğü oluşumunu önler (20). Epidemiyolojik bir çalışma, daha fazla sayıda çürüğe sahip olan ergen bireylerin, daha az çürüğe sahip çocuklara kıyasla tükürüklerinde artmış konsantrasyonda MUC5B ve MUC1 bulunduğunu göstermektedir (21). Baughan ve ark ise, daha düşük MUC7 konsantrasyonlarına sahip yaşlı bireylerin, daha yüksek MUC7 konsantrasyonlarına sahip olanlara kıyasla tükürüklerinde S. mutans titrelerinin arttığını göstermektedir (22). Başka bir çalışmada, DMFT indeksi daha yüksek ( $>10.0$ ) olan bireylerin, daha düşük DMFT indeksi ( $\leq 4.0$ ) olanlara kıyasla, MUC5b ve MUC7 düzeylerinde azalma olduğunu ve DMFT indeksi ile bu proteinlerin negatif yönde korele olduğunu gözlemlenmiştir (17). Szkaradkiewicz-Karpińska ve arkadaşları ise MUC7 ve MUC5B düzeylerinin diş çürüğü olmayan grupta, çürüğü olan gruba kıyasla daha yüksek olduğunu, özellikle MUC7'nin çürük riskini belirlemede kullanılabileceğini işaret etmiştir (23).

### **3. DEFENSİN**

Defensinler, antimikrobiyal aktiviteye sahip küçük, katyonik proteinlerdir. Bakteri yükü, bakterilerin katyonik peptitlere karşı duyarlılığı için önemli bir faktördür. Bu peptitler çeşitli gram pozitif ve gram negatif bakterileri, mantarları ve zarflı virüsleri öldürebilir (24).

Defensinler,  $\alpha$ -defensinler ve  $\beta$ -defensinler dahil olmak üzere iki alt aileye ayrılırlar. Hem  $\alpha$ -defensinler hem de insan  $\beta$ -defensinleri tükürükte bulunur. Tükürük  $\alpha$ -defensinlerinin nötrofil tarafından üretildiği ve tükürük  $\beta$ -defensinlerinin oral mukozanın keratinositlerinden türediği tahmin edilmektedir (24). Defensinler, diş çürüklerinin önlenmesinde rol alabilir.

Tükürük bezlerinde  $\alpha$ -defensin-1 tespit edilemese de, nötrofiller kandan dişeti oluşu sıvısı yoluyla göç eder, tükürük ile karışır ve tükürük  $\alpha$ -defensin-1'in nötrofiller tarafından üretildiği düşünülür (24). Bu hücreler, ağız boşluğunda inflamatuvar bir bileşen olduğunda aktive olur.  $\alpha$ -defensin-1, bir enfeksiyona karşı savunma hattı olarak ortaya çıkan, doğal bağışıklıkta önemli bir antimikrobiyal protein olarak düşünülmektedir. Ouhara ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada,

$\beta$ -defensinler'in gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere, mantarlara ve virüslerle karşı bir antimikrobiyal aktivitesi olduğu, ağız içi dokuların korunması için önemli olduğu gösterilmiştir (25).  $\beta$ -defensinlerin, ilk antibakteriyel bariyer görevi görerek bağışıklıkta yer aldığına inanılmaktadır (26, 27). Buna paralel olarak,  $\beta$ -defensin-1, sürekli olarak eksprese edilir, diğer  $\beta$ -defensinler ise bakteri varlığı ile indüklenir.  $\beta$ -defensin-1 ve  $\beta$ -defensin-2'in antibakteriyel aktivitesi, gram pozitif bakterilere karşı daha az etkilidir, ve bu proteinler öncelikle gram negatif bakteriler üzerinde etkilidir (25).  $\beta$ -defensin-3 ise, hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere karşı etkilidir ve diğer  $\beta$ -defensin'lerden daha fazla antibakteriyel etkiye sahiptir (25).

#### **4. HISTATİNLER**

Histatinler, büyüklükleri 7 ila 38 amino asit arasında değişen, histidin aminoasidi açısından zengin katyonik peptitlerdir. Histatinler, parotis bezinin yanı sıra sublingual ve submandibular tükürük bezleri tarafından salgılanır (28). Histatinler, geniş spektrumlu antibakteriyel, antiviral ve antifungal özellikler gösterir (15, 29). Katyonik peptit olan histatin, negatif yüklü bakteri hücre zarları üzerine elektrostatik kuvvetler yoluyla adsorbe olur, böylelikle histatin agregasyonu olur ve bakterinin çift katlı lipid tabakanın yapısına entegre olur (30). Bakteri zarına entegrasyonlarının iyon kanallarının oluşumuna, zarlar arası porlara ve zar sızıntılarına yol açarak antibakteriyel etki gösterir. Histatinler ayrıca  $\text{Cu}^{+2}$  ve  $\text{Ni}^{+2}$  iyonlarını bağlar, bunun sonucunda bu iyonların eksikliğine bağlı olarak enzimlerin, kofaktörlerinin ve mikrobiyal büyümenin inhibisyonuna yol açar (31). Özellikle histatin-1, diş yüzeyinin yapısındaki pelikülün yapısında bulunarak, karyojenik bakterilerin diş yüzeyine yapışmasını engeller (32).

Tükürük Histatin-5 düzeylerinin, erken çocukluk çağı çürüğünde artmış olduğu gösterilmiştir (33). Bir başka çalışmada, DMFT indeksi 11 den büyük olan gençlerde, DMFT indeksi 3 olan gruba göre artmış tükürük Histatin-5 konsantrasyonu bildirilmiştir (34).

#### **5. LAKTOFERRİN**

Laktoferrin, tükürük dahil çoğu ekzokrin sekresyonda bulunan 80 kDa'lık demir bağlayıcı katyonik bir glikoproteindir (35). Tükürükteki başlıca laktoferrin kaynakları, tükürük bezleri, ağız boşluğuna giren nötrofil granülositleri ve mukozal epitel hücreleridir (35, 36). Laktoferrin ayrıca tükürükte bulunan önemli bir laktoferrin kaynağı olan dişeti oluşu sıvısında da mevcuttur. Laktoferrin bakteri, mantar, parazit ve virüslere karşı aktiftir (36). Laktoferrin pozitif bir net yüke sahiptir ve bu katyonik özellik, histatinlerin etki mekanizmasında detaylandırıldığı

gibi mikrobiyal hücre zarlarına bağlanmasına ve yok edilmesine yol açabilecek önemli bir faktördür (35). Mikroorganizmaları (yani bakteriler, mantarlar ve parazitler) büyümeleri için gerekli olan demirden yoksun bırakarak demiri bağlar ve sekestre eder (36). Laktoferrin, in vitro anti-inflamatuar aktiviteye sahiptir ve polipeptit zincirinde antimikrobiyal etkiler gösteren çeşitli alanlar mevcuttur (37). Bakteriyel fimbrial adezinleri bağlar ve bu nedenle bazı bakterilerin epitelyal yapışmasını engeller. Laktoferrin ayrıca doğrudan bağlanma yoluyla virüsleri nötralize edebilir (4). Antibakteriyel aktiviteleri nedeniyle gargaralarda ve diş macunlarında bir bileşen olarak kullanılır (37).

İki yıl süreli kohort çalışmasında, lizozim veya laktoferrin gibi tek tükürük antimikrobiyal ajanlarının hiçbirinin, gelecekteki çürükler açısından in vivo tanısal öneme sahip olmak için yeterince güçlü bir güce sahip olmadığı belirtilmiştir (38). Öte yandan, laktoferrin, lizozim ve laktoperoksidaz içeren diş macununun, erken çocukluk çağı çürüğü olan çocuklarda *S. mutans* ve *L. acidophilus*'un tükürük seviyelerini azaltmada yüksek etkinliğini göstermiştir (39).

## **6. LİZOZİM**

Lizozim, tükürük dahil vücut sıvılarında bulunur ve 145 kDa ağırlığındadır. Lizozim, zincirinin sekiz sistein kalıntısı arasında dört disülfid bağı ile stabilize edilmiş küçük, monomerik bir proteindir. Lizozim, tükürük bezleri tarafından üretilir (özellikle sublingual tükürük bezi) ve ayrıca ağız içi nötrofil granüositleri tarafından da üretilir. Dişeti oluğu sıvısında da bulunmaktadır. Lizozim (muramidaz veya N-asetilmuramik asit hidrolaz), enzimatik aktivitesini N-asetilmuramik asit (NAM) ve N-asetilglukozamid (NAG) arasındaki  $\beta$ -1,4-glikosidik bağların hidrolizi yoluyla gösteren bir proteindir. Lizozim esas olarak peptidoglikan yapısına zarar vererek, gram pozitif bakterileri öldürür.

Lizozimin antibakteriyel etkisi, bakteri hücre duvarlarının polisakkarit tabakasında bulunan  $\beta$ -1,4 glikozidik bağı hidrolize etme yeteneğinden dolayı gram pozitif bakterilere karşı özellikle etkilidir. Dış zarda koruyucu bir lipopolisakkarit tabakasının varlığından dolayı Gram negatif bakterilere karşı etkisi önemli ölçüde daha zayıftır.

Lizozimler, bakteriyel otolizi ve agregasyonun aktivasyonu, bakteri yapışmasının inhibisyonu ve bakteri metabolizmasının inhibisyonu gibi mekanizmalar yoluyla bakteri hücre duvarının yapısının bozulmasına neden olur. Diş çürüğü patogeneğinde, tükürük lizoziminin rolüne ilişkin çalışmalar sınırlıdır ve sonuçları birbiri ile örtüşmemektedir. Yetişkinlerde yapılan bazı çalışmalarda tükürük lizozim aktivitesi ile çürük gelişimi arasında bir ilişki rapor edilmemiştir (40, 41). Çocuklarda, diş çürüğü olan grupta tükürük lizozim seviyelerinin ve lizozim aktivitesinin artmış olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (42, 43).

## **7. MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR**

Dentindeki çürük süreci, organik matriksin yanı sıra minerallerin de çözünmesini içerir. Demineralizasyon, fermente olabilen karbonhidratların metabolizmasının bir yan ürünü olarak oral mikroorganizmalar tarafından üretilen asitler tarafından gerçekleştirilir. Bu asitler, özellikle laktik asit, dental kalsifiye dokulardan difüze olur ve pH'ı 5.5'in altına düşürür, bu da mineral kristallerinin çözünmesine yol açar (44). Gün içerisinde birçok kez meydana gelen dinamik demineralizasyon süreci, genellikle tükürüğün remineralizasyonun gerçekleşmesine izin veren özellikleri (tampon, akış hızı, inorganik içerik vb.) ile dengelenir. Ancak bu denge bozulduğunda ve patolojik faktörler baskın olduğunda diş çürüğü oluşur. Diş minesinin çürüme süreci, inorganik mineraline yapının karyojenik bakteriler tarafından serbest bırakılan asitler tarafından çözüldüğü fizikokimyasal reaksiyonları içerir. Dentinin çürük süreci ise minenin çürük sürecinden büyük ölçüde farklılık gösterir ve organik matriksinin bozulması ile karakterizedir. Floranın temizlenmesi veya florür kullanımı gibi tüm çürük önleyici yöntemler diş minesinin çürümelerini önlemeye yöneliktir, ancak dentin çürükleri geri dönüşümsüzdür (45). Tip I kollajen, dentin organik matrisinin yaklaşık %90'ını oluşturur. Diş çürüğü patogeneğinde, proteolitik enzimlerin rolü olduğu düşünülmektedir, çünkü bakterilerin ürettiği asitler dentinin yapısındaki kollajeni çözmek için yeterli değildir (46). Artmış tükürük asiditesi de, MMP'lerin aktivitesini uyarır (47). Tükürük, dişeti oluşu sıvısı veya tükürük bezleri kaynaklı, kollajenaz ve jelatinazlar dahil olmak üzere birçok MMP içerir ve MMP-9 tükürükte en çok bulunan MMP'dir (48).

Matriks metalloproteinazlar (MMP), ekstraselüler matris moleküllerini hidrolize eden,  $Zn^{++}$  ve  $Ca^{++}$ 'a bağımlı bir nötral endopeptidaz ailesidir. Aktivitesi, endojen inhibitörü olan, doku matriks metalloproteinaz inhibitörü (TIMP) ile inaktive edilir. TIMP'ler, ilk olarak kolajenaz inhibitörü olarak keşfedilmiştir ve apoptoz ve kanser gelişiminde rol aldıkları düşünülmektedir (47). Ek olarak, MMP'ler sitokinler, kemokinler ve hücre sinyal molekülleri gibi çeşitli biyoaktif substratlara etki ederek, bağışıklık sisteminin yanıtını değiştirebilir (49). Bu proteinazlar, büyüme, rejenerasyon ve anjiyogenez gibi birçok biyolojik süreçte merkezi bir rol oynar (44). MMP'ler bağ dokusu hücreleri (fibroblastlar, osteoblastlar ve odontoblastlar) ve ayrıca polimorfonükleer lökositler ve diğer inflamatuvar hücreler tarafından üretilir (44, 48). Anormal MMP seviyeleri doku yıkımını gösterir. MMP'lerin periodontitis, diş çürüğü, artrit, sjögren sendromu, kanser ve fibrozis gibi birçok hastalıkla ilişkisi gösterilmiştir (48).

MMP-1, ekstraselüler matriksteki tip I, II ve III kolajenleri parçalarken, MMP-2 (kolajenaz tip IV), bazal membranın ana glikoprotein bileşeni olan kolajen tip

IV'ü proteoliz eder ve vasküler ve inflamatuvar süreçlerin düzenlenmesinde rol alır. MMP'lerin dentin ECM bozulmasındaki potansiyel rolü göz önüne alındığında, çürüklerin kontrolü ile ilişkilendirilip, MMP inhibisyonunun dentin çürüğünün ilerlemesini kontrol etmekte etkin olabileceği düşünülmüştür. Bu görüş, kimyasal MMP inhibitörlerinin intra-oral uygulamasıyla dentin çürüğünün ilerlemesinin geciktirildiği rat modellerinde yapılan çalışmalarla desteklenmiştir. Sulkala ve ark. yaptıkları çalışmada, MMP inhibitörü verilen ratlarda dentin çürüğü ilerlemesinin durduğunu, MMP'lerin dentin çürüğü patogenezinde önemli bir rolü olduğunu ve MMP inhibitörlerinin çürük progresyonunun önlenmesinde faydalı olabileceğini göstermiştir (50). Birkaç etkili MMP inhibitörü tarif edilmiştir. Tetrasiklinler ve türevleri, doksisisiklin ve minosiklin, antimikrobiyal etkilerinden bağımsız olarak MMP aktivitesini inhibe edebilmektedir ve hem in vitro hem de in vivo olarak MMP-1, MMP-2, MMP-8 ve MMP-12'yi inhibe ettikleri gösterilmiştir (51-53). Gendron ve arkadaşlarının çalışmasında ise, klorheksidinin MMP-2, MMP-8 ve MMP-9 aktivitesini inhibe ettiğini göstermiştir (54). Xu ve arkadaşları ise, ratlarda modifiye edilmiş tetrasiklin-3'ün lokal olarak dişlere uygulanmasının mine çürüğünü önlemede etkisiz olduğunu, ancak çürüğün dentine ilerlemesini önlediğini ve dentin çürüğü insidansını azalttığını göstermiştir (45).

Sonuç olarak, birçok çalışma dentin ve tükürükte bulunan endojen enzimlerin dentin çürüğü sürecinde yer aldığını göstermiştir. Bu bulgular önemlidir, çünkü diş çürüğü önlenmesi ve tedavisi için yeni seçenekler sunar. Organik matriksin geri dönüşü olmayan tahribatının yavaşlatılması veya önlenmesi, lezyonun remineralizasyon aracılığıyla iyileşmesini sağlayacaktır. MMP inhibitörleri, dentin çürüğünün ilerlemesinin önlenmesinde faydalı olabilir. Bununla birlikte, bu yaklaşımın sonuçları, karyojenik biyofilm, diyet, yetersiz tükürük akış hızı ve yetersiz florür maruziyeti gibi çürük risk faktörlerinin kontrolünü içeren çürük riskinin yönetimine bağlı olacaktır (55).

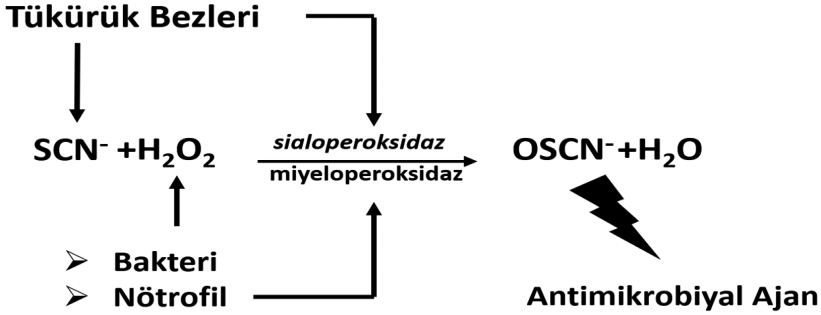
## **8. PEROKSİDAZLAR**

Tükürüğün peroksidaz sisteminin iki ana bileşeni vardır, bunlar sialoperoksidaz ve miyeloperoksidazdır (56). Sialoperoksidaz tükürük bezleri tarafından üretilirken, miyeloperoksidaz ağız boşluğundaki nötrofil granülositleri tarafından üretilir. Miyeloperoksidaz ayrıca dişeti oluşu sırasında da mevcuttur ve diş eti inflamasyonunda seviyesi artar (57). Şekil 1'de gösterildiği gibi Hem sialoperoksidaz hem de miyeloperoksidaz, tiyosiyanat iyonlarının (SCN<sup>-</sup>) hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) tarafından oksidasyonunu katalize ederek çok daha bakterisit ve fungisidal bir maddenin, yani hipotiyosiyanit (OSCN<sup>-</sup>) üretilmesine sebep olur (56). Ek olarak, miyeloperoksidaz, inflamatuvar doku hasarında rol oynayan daha



güçlü bir oksidan olan hipoklorit de üretebilir. Ağız içi peroksidazlar, oral florayı düzenler ve ağız boşluğunu çevreleyen dokuların mikrobiyal enfeksiyonlardan korunmasına yardımcı olur.

Miyeloperoksidaz enzim aktivitesinin hem tükürükte hem de serumda çürük aktivitesi ile arttığı gösterilmiştir (57). Tükürükteki miyeloperoksidaz seviyesinin periodontal hastalıklarda da arttığı raporlanmıştır (58, 59).



Şekil 1. Ağız mikroflorasını kontrol eden OSCN<sup>-</sup> üretimine yol açan ağız boşluğundaki peroksidaz sistemi. SCN<sup>-</sup>, tiyosiyanat; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hidrojen peroksit; OSCN<sup>-</sup>, hipotiyosiyanit.

## 9. OKSİDATİF STRES

Oksidatif stres, aşırı serbest radikal üretimi veya antioksidan sistem fonksiyonunun azalması sonucu oksidatif sistemin oksidanlar lehine bozulması sonucu oluşan patolojik bir durumdur. Son yıllarda birçok hastalığın artan serbest radikal aktivite ile ilişkili olduğu ortaya konmuş ve hastalıkların patogenezinde oksidatif stresin aktif rolüne dikkat çekilmiştir. Farklı antioksidan veya oksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçülmesi pratik olmadığından ve karmaşık teknikler gerektirdiğinden bir örneğin toplam antioksidan kapasitesi ve oksidan kapasitesi ölçülür ve toplam antioksidan seviye (TAS) ve toplam oksidatif seviye (TOS) olarak adlandırılır. Reaktif oksijen türleri (ROS) insan vücudunda metabolik ve fizyolojik süreçlerde salınmakta ve enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidatif mekanizmalar yoluyla uzaklaştırılmaktadır.

Oksidan ve antioksidan sistemlerin diş çürükleri de dahil olmak üzere birçok ağız hastalığında önemli etyolojik faktörlerden biri olduğu doğrulanmış ve tükürüğün serbest radikal aracılı oksidatif strese karşı ağız içindeki ilk savunma hattı olabileceği tartışılmıştır (60, 61).

Ahmadi-Motamayel ve arkadaşları 15-17 yaş aralığındaki lise öğrencileri üzerinde yaptığı çalışmada, aktif diş çürüğü olan bireylerin tükürük TAS düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (62). Pediatrik

yaş grubundaki diğer birkaç çalışma, aktif çürüğü olan hastalarda tükürük TAS seviyelerinin artmış olduğunu bildirmiştir (63, 64). Hegde ve arkadaşları diş çürüğü olan hastalarda tükürük ve serum TAS düzeylerinin çürüksüz gruba göre daha yüksek olduğunu ve hem serum hem de tükürük TAS değerlerinin çürük şiddeti ile arttığını göstermiştir (65). Diş çürüğü olan gruptaki yüksek TAS seviyesi, enfeksiyona verilen yanıtın değişmesi nedeniyle oksidatif strese karşı bir kompensatuvar mekanizma olabileceği şeklinde açıklanabilir. Etkili olabilecek diğer bir mekanizma ise diyettir. Aşırı fruktoz tüketimi, tükürüğün ana antioksidanı olan ürik asit konsantrasyonlarında yükselmeye yol açar (66). Bu nedenle, şeker tüketimi yalnızca diş çürüğü riskini artırmakla kalmaz, aynı zamanda tükürük TAS düzeylerinin de yükselmesine katkıda bulunur.

Serbest radikallerin neden olduğu hücrel hasar, lipidlerin peroksidasyonuna yol açarak oksidatif strese neden olur. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA), periodontal hastalıklar ve diş çürüğü de dahil olmak üzere çeşitli patolojik durumlarda oksidatif stres için bir belirteç olarak gösterilmiştir (67). Tükürük MDA seviyelerinin, diş çürüğü olan 15-17 yaş grubu hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (68). Erişkinlerde yapılan bir başka çalışmada, tükürük MDA seviyelerinin diş çürüğü olan hastalarda artmış olduğu gösterilmiştir (69).

## **10. ESER ELEMENTLER**

Tükürüğün temel elementleri esas olarak %99 su ve %1 organik, inorganik ve eser elementlerdir (70). Bu eser elementler nispeten çok düşük konsantrasyonlarda bulunurlar. Tükürük bileşenlerinin varlığının, özellikle tükürükte bulunan eser elementlerin konsantrasyonunun, çürük üzerinde doğrudan bir etkisi olduğu kanıtlanmıştır.

Reddy ve arkadaşları, diş çürüğü olan hastalarda tükürük bakır seviyelerinin diş çürüğü olmayan hastalara kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu, ayrıca tükürük bakır düzeyinin DMFT indeksi ile pozitif yönde korele olduğunu bildirmiştir (70). Hussein ve arkadaşları ise tükürük bakır ve çinko konsantrasyonunun, diş çürüğü olan çocuklarda daha yüksek olduğunu ve ikisinin de diş çürüğü ile pozitif korele olduğunu belirtmiştir (71). Bu çalışma sonuçlarıyla benzer olarak, Hegde ve arkadaşları erişkin hasta popülasyonunda diş çürüğü olan grupta tükürük bakır ve çinko düzeylerinin artmış olduğunu bildirmiştir (72). Bakır ve çinko plak, tükürük ve dişlerde dahil olmak üzere vücudun birçok dokusunda bulunur. Diş çürüğü varlığında, tükürükte bakır artışının nedeni, çürük

oluşumunda minenin hidroksiapatit kristal yapısının parçalanması ve böylece bakır iyonlarını mineden tükürüğe salması olabilir (72). Çinko, kemik büyümesini ve mineralizasyonu uyarır ve osteoklast aktivitesini etkiler. Ayrıca, bakteri yapışmasını, metabolik aktiviteyi ve büyüme yeteneklerinden dolayı antibakteriyel etkiye sahiptir (73).

## **11. CD14**

Gram negatif bakteriler arasında yaygın olan virülans faktörleri endotoksinler (biyolojik olarak aktif bileşenleri lipopolisakkaritlerdir) ve Gram pozitif bakteriler arasında ise lipoteikoik asittir. Hem lipopolisakkarit (LPS) hem de lipoteikoik asit, 55 kDa'lık bir glikoprotein olan CD14 ko-reseptörüne bağlanır (74). CD14 işlevlerinden biri, LPS'yi ve diğer mikrobiyal bileşenleri (peptidoglikanlar, lipoteikoik asitler) nötralize etmektir (75, 76). Lokalizasyona bağlı olarak, CD14 reseptörü iki biçimde bulunur. Membran bağlı CD14 (mCD14), makrofaj benzeri hücrelerin (monosit, makrofaj), aktif nötrofillerin ve diş eti fibroblastları dahil çok sayıda miyeloid olmayan hücrelerin yüzeyinde eksprese edilir (75, 76). Bu hücreler tarafından kendiliğinden salınan çözünen form (sCD14), serumda yüksek miktarlarda bulunur ve lipopolisakkarit bağlayıcı protein (LBP) ile etkileşime girer (77). LPS/LBP/CD14 üçlü kompleksi, hücre aktivasyonuna yol açan toll-benzeri-reseptörler (TLR) ile etkileşime girer (78). Periodontal patojenlerle ilk karşılaşan diş eti epitel hücreleri çoğunlukla TLR eksprese eder. TLR-2 ve TLR-4'ün, Gram pozitif peptidoglikanını ve Gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritini ya tek başına ya da ortak ko-reseptör CD14 ile birlikte tanıdığı gösterilmiştir (79). TLR-2 ve TLR-4'ün oral dokuda bakteriyel aktivasyonu, çoklu sinyal yollarını ve periodontal dokunun yıkımını destekleyen inflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin sentezini tetikleyebilir (80). Bu durum diş çürüğü gelişiminde immünkomplekslerin önemini vurgulamaktadır.

Prester ve arkadaşları, sCD14'ün aktif çürüğü olan katılımcılarda çürüksüz katılımcılardan daha yüksek olduğunu göstermiş ve diş çürüğünün varlığının tükürük sCD14 seviyeleri ile ilişkili önemli bir faktör olduğunu belirtmiştir (76). Bir başka çalışmada, diş çürüğü olan çocuk grupta tükürükte TLR-2 düzeyinin artmış olduğu ancak CD14 düzeylerinin kontrol grubuyla benzer olduğu bildirilmiştir (79). Biria ve arkadaşları ise, erken çocukluk çağı diş çürüğünde tükürük CD14 seviyelerinin arttığını ve tedavinin üçüncü ayında seviyelerinin düştüğünü göstermiştir (81).

## **KAYNAKLAR**

1. Van Nieuw Amerongen A, Bolscher JG, Veerman EC. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res.* 2004;38(3):247-53.
2. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva--a review. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(2):197-212.
3. Humeau M, Vignolle-Vidoni A, Sicard F, et al. Salivary MicroRNA in Pancreatic Cancer Patients. *PLoS One.* 2015;10(6):e0130996.
4. Fábíán TK, Hermann P, Beck A, et al. Salivary defense proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. *Int J Mol Sci.* 2012;13(4):4295-320.
5. Marcotte H, Lavoie MC. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998;62(1):71-109.
6. Chawda JG, Chaduvula N, Patel HR, et al. Salivary SIgA and dental caries activity. *Indian Pediatr.* 2011;48(9):719-21.
7. Lawrence HP. Salivary markers of systemic disease: noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health. *J Can Dent Assoc.* 2002;68(3):170-4.
8. Omar OM, Khattab NM, Rashed LA. Glucosyltransferase B, immunoglobulin a, and caries experience among a group of Egyptian preschool children. *J Dent Child (Chic).* 2012;79(2):63-8.
9. Wu Z, Gong Y, Wang C, et al. Association between salivary s-IgA concentration and dental caries: an updated meta-analysis. *Bioscience Reports.* 2020;40(12).
10. Vitorino R, de Moraes Guedes S, Ferreira R, et al. Two-dimensional electrophoresis study of in vitro pellicle formation and dental caries susceptibility. *Eur J Oral Sci.* 2006;114(2):147-53.
11. Ranadheer E, Nayak UA, Reddy NV, et al. The relationship between salivary IgA levels and dental caries in children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2011;29(2):106-12.
12. Kilian M, Russell MW. Chapter 22 - Microbial Evasion of IgA Functions. In: Mestecky J, Strober W, Russell MW, Kelsall BL, Cheroutre H, Lambrecht BN, editors. *Mucosal Immunology (Fourth Edition)*. Boston: Academic Press; 2015. p. 455-69.
13. Rudney JD, Smith QT. Relationships between levels of lysozyme, lactoferrin, salivary peroxidase, and secretory immunoglobulin A in stimulated parotid saliva. *Infect Immun.* 1985;49(3):469-75.
14. Culp DJ, Robinson B, Cash MN, et al. Salivary mucin 19 glycoproteins: innate immune functions in *Streptococcus mutans*-induced caries in mice and evidence for expression in human saliva. *J Biol Chem.* 2015;290(5):2993-3008.
15. Fábíán TK, Hermann P, Beck A, et al. Salivary defense proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. *International journal of molecular sciences.* 2012;13(4):4295-320.
16. Frenkel ES, Ribbeck K. Salivary mucins in host defense and disease prevention. *Journal of Oral Microbiology.* 2015;7(1):29759.
17. Banderas-Tarabay JA, Zacarias-D'Oleire IG, Garduño-Estrada R, et al. Electrophoretic analysis of whole saliva and prevalence of dental caries. A study in Mexican dental students. *Arch Med Res.* 2002;33(5):499-505.
18. Bruno LS, Li X, Wang L, et al. Two-hybrid analysis of human salivary mucin MUC7 interactions. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1746(1):65-72.
19. Iontcheva I, Oppenheim FG, Troxler RF. Human salivary mucin MG1 selectively forms heterotypic complexes with amylase, proline-rich proteins, statherin, and histatins. *J Dent Res.* 1997;76(3):734-43.
20. Frenkel ES, Ribbeck K, Schottel JL. Salivary Mucins Protect Surfaces from Colonization by Cariogenic Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology.* 2015;81(1):332-8.
21. Gabryel-Porowska H, Gornowicz A, Bielawska A, et al. Mucin levels in saliva of adolescents with dental caries. *Med Sci Monit.* 2014;20:72-7.
22. Baughan LW, Robertello FJ, Sarrett DC, et al. Salivary mucin as related to oral *Streptococcus mutans* in elderly people. *Oral Microbiology and Immunology.* 2000;15(1):10-4.
23. Szkaradkiewicz-Karpińska AK, Ronij A, Goślińska-Kuźniarek O, et al. MUC7 Level As A New Saliva Risk Factor For Dental Caries In Adult Patients. *Int J Med Sci.* 2019;16(2):241-6.

24. Abiko Y, Nishimura M, Kaku T. Defensins in saliva and the salivary glands. *Med Electron Microsc.* 2003;36(4):247-52.
25. Ouhara K, Komatsuzawa H, Yamada S, et al. Susceptibilities of periodontopathogenic and cariogenic bacteria to antibacterial peptides, {beta}-defensins and LL37, produced by human epithelial cells. *J Antimicrob Chemother.* 2005;55(6):888-96.
26. Gurao A, Kashyap SK, Singh R.  $\beta$ -defensins: An innate defense for bovine mastitis. *Vet World.* 2017;10(8):990-8.
27. Gursoy UK, Könönen E. Understanding the roles of gingival beta-defensins. *J Oral Microbiol.* 2012;4.
28. Johnson DA, Yeh CK, Dodds MW. Effect of donor age on the concentrations of histatins in human parotid and submandibular/sublingual saliva. *Arch Oral Biol.* 2000;45(9):731-40.
29. Oudhoff MJ, Bolscher JG, Nazmi K, et al. Histatins are the major wound-closure stimulating factors in human saliva as identified in a cell culture assay. *Faseb j.* 2008;22(11):3805-12.
30. Brogden KA. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat Rev Microbiol.* 2005;3(3):238-50.
31. Grogan J, McKnight CJ, Troxler RF, et al. Zinc and copper bind to unique sites of histatin 5. *FEBS Lett.* 2001;491(1-2):76-80.
32. Shimotoyodome A, Kobayashi H, Tokimitsu I, et al. Statherin and histatin 1 reduce parotid saliva-promoted *Streptococcus mutans* strain MT8148 adhesion to hydroxyapatite surfaces. *Caries Res.* 2006;40(5):403-11.
33. Jurczak A, Kościelniak D, Papież M, et al. A study on  $\beta$ -defensin-2 and histatin-5 as a diagnostic marker of early childhood caries progression. *Biol Res.* 2015;48:61-.
34. Gornowicz A, Tokajuk G, Bielawska A, et al. The assessment of sIgA, histatin-5, and lactoperoxidase levels in saliva of adolescents with dental caries. *Med Sci Monit.* 2014;20:1095-100.
35. Wiesner J, Vilcinskas A. Antimicrobial peptides: the ancient arm of the human immune system. *Virulence.* 2010;1(5):440-64.
36. Gorr SU. Antimicrobial peptides of the oral cavity. *Periodontol* 2000. 2009;51:152-80.
37. Moslemi M, Sattari M, Kooshki F, et al. Relationship of Salivary Lactoferrin and Lysozyme Concentrations with Early Childhood Caries. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2015;9(2):109-14.
38. Kirstilä V, Häkkinen P, Jentsch H, et al. Longitudinal analysis of the association of human salivary antimicrobial agents with caries increment and cariogenic micro-organisms: a two-year cohort study. *J Dent Res.* 1998;77(1):73-80.
39. Gudipani RK, Kumar RV, G J, et al. Short term comparative evaluation of antimicrobial efficacy of tooth paste containing lactoferrin, lysozyme, lactoperoxidase in children with severe early childhood caries: a clinical study. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(4):Zc18-20.
40. Stuchell RN, Mandel ID. A comparative study of salivary lysozyme in caries-resistant and caries-susceptible adults. *J Dent Res.* 1983;62(5):552-4.
41. Gråhn E, Tenovuo J, Lehtonen OP, et al. Antimicrobial systems of human whole saliva in relation to dental caries, cariogenic bacteria, and gingival inflammation in young adults. *Acta Odontol Scand.* 1988;46(2):67-74.
42. Lertsirivorakul J, Petsongkram B, Chaiyarit P, et al. Salivary Lysozyme in Relation to Dental Caries among Thai Preschoolers. *J Clin Pediatr Dent.* 2015;39(4):343-7.
43. Jentsch H, Beetke E, Göcke R. Salivary analyses and caries increment over 4 years: an approach by cluster analysis. *Clin Oral Investig.* 2004;8(3):156-60.
44. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, et al. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res.* 2006;85(1):22-32.
45. Xu J, Miao C, Tian Z, et al. The Effect of Chemically Modified Tetracycline-3 on the Progression of Dental Caries in Rats. *Caries Res.* 2018;52(4):297-302.
46. Hedenbjörk-Lager A, Björndal L, Gustafsson A, et al. Caries correlates strongly to salivary levels of matrix metalloproteinase-8. *Caries Res.* 2015;49(1):1-8.
47. Ersöz E, Erklı H. Matriks metalloproteinazlar: diş dokuları ve çürük üzerine etkileri. *Cumhuriyet Dental Journal.* 2011;14.

48. Matuszczak E, Cwalina I, Tylicka M, et al. Levels of Selected Matrix Metalloproteinases-MMP-1, MMP-2 and Fibronectin in the Saliva of Patients Planned for Endodontic Treatment or Surgical Extraction. *J Clin Med.* 2020;9(12).
49. Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis.* 2004;10(6):311-8.
50. Sulkala M, Wahlgren J, Larmas M, et al. The Effects of MMP Inhibitors on Human Salivary MMP Activity and Caries Progression in Rats. *Journal of Dental Research.* 2001;80(6):1545-9.
51. Chaussain C, Boukpepsi T, Khaddam M, et al. Dentin matrix degradation by host matrix metalloproteinases: inhibition and clinical perspectives toward regeneration. *Frontiers in Physiology.* 2013;4.
52. Golub LM, Sorsa T, Lee HM, et al. Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva. *J Clin Periodontol.* 1995;22(2):100-9.
53. Lauhio A, Salo T, Tjäderhane L, et al. Tetracyclines in treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet.* 1995;346(8975):645-6.
54. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, et al. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999;6(3):437-9.
55. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet.* 2007;369(9555):51-9.
56. Ihalin R, Loimaranta V, Tenovou J. Origin, structure, and biological activities of peroxidases in human saliva. *Arch Biochem Biophys.* 2006;445(2):261-8.
57. Hegde M, Kumari S, Hegdec N, et al. Myeloperoxidase and Glutathione Peroxidase Activity of Saliva and Serum in Adults with Dental Caries: A Comparative Study. *The Journal of Free Radicals and Antioxidants.* 2013;139:175-80.
58. Klangprapan S, Chaiyarit P, Hormdee D, et al. Salivary Myeloperoxidase, Assessed by 3,3'-Diaminobenzidine Colorimetry, Can Differentiate Periodontal Patients from Nonperiodontal Subjects. *Enzyme Res.* 2016;2016:7517928-.
59. Meschiari CA, Marcaccini AM, Santos Moura BC, et al. Salivary MMPs, TIMPs, and MPO levels in periodontal disease patients and controls. *Clinica Chimica Acta.* 2013;421:140-6.
60. Kumar D, Pandey RK, Agrawal D, et al. An estimation and evaluation of total antioxidant capacity of saliva in children with severe early childhood caries. *Int J Paediatr Dent.* 2011;21(6):459-64.
61. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, et al. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol.* 2002;29(3):189-94.
62. Ahmadi-Motamayel F, Goodarzi MT, Hendi SS, et al. Total antioxidant capacity of saliva and dental caries. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013;18(4):e553-6.
63. Dodwad R, Betigeri AV, Preeti BP. Estimation of total antioxidant capacity levels in saliva of caries-free and caries-active children. *Contemp Clin Dent.* 2011;2(1):17-20.
64. Silva PVD, Troiano JA, Nakamune A, et al. Increased activity of the antioxidants systems modulate the oxidative stress in saliva of toddlers with early childhood caries. *Arch Oral Biol.* 2016;70:62-6.
65. Hegde MN, Hegde ND, Ashok A, et al. Evaluation of total antioxidant capacity of saliva and serum in caries-free and caries-active adults: an in-vivo study. *Indian J Dent Res.* 2013;24(2):164-7.
66. Toczewska J, Maciejczyk M, Konopka T, et al. Total Oxidant and Antioxidant Capacity of Gingival Crevicular Fluid and Saliva in Patients with Periodontitis: Review and Clinical Study. *Antioxidants (Basel).* 2020;9(5):450.
67. Subramanyam D, Gurunathan D, Gaayathri R, et al. Comparative evaluation of salivary malondialdehyde levels as a marker of lipid peroxidation in early childhood caries. *European journal of dentistry.* 2018;12(1):67-70.
68. Ahmadi-Motamayel F, Hendi SS, Goodarzi MT. Evaluation of Salivary Lipid Peroxidation End Product Level in Dental Caries. *Infect Disord Drug Targets.* 2020;20(1):65-8.
69. Sarode G, Shelar A, Sarode S, et al. Association between Dental Caries and Lipid Peroxidation in Saliva. *International Journal of Oral & Maxillofacial Pathology.* 2012;3:02-4.

70. Reddy VR, Devakar S, Chowdhary N, et al. Estimation of Copper Levels in Saliva and Its Relation to Dental Caries and Hemoglobin Levels. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2021;14(2):235-7.
71. Hussein AS, Ghasheer HF, Ramli NM, et al. Salivary trace elements in relation to dental caries in a group of multi-ethnic schoolchildren in Shah Alam, Malaysia. *Eur J Paediatr Dent.* 2013;14(2):113-8.
72. Hegde MN, Hegde ND, Ashok A, et al. Biochemical indicators of dental caries in saliva: an in vivo study. *Caries Res.* 2014;48(2):170-3.
73. Sejdini M, Begzati A, Salihu S, et al. The Role and Impact of Salivary Zn Levels on Dental Caries. *Int J Dent.* 2018;2018:8137915-.
74. Uehara A, Sugawara S, Tamai R, et al. Contrasting responses of human gingival and colonic epithelial cells to lipopolysaccharides, lipoteichoic acids and peptidoglycans in the presence of soluble CD14. *Med Microbiol Immunol.* 2001;189(4):185-92.
75. Wang PL, Ohura K. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide signaling in gingival fibroblasts-CD14 and Toll-like receptors. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(2):132-42.
76. Prester L, Protrka N, Macan J, et al. Salivary sCD14 as a potential biomarker of dental caries activity in adults. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2017;68(4):315-21.
77. Prester L, Varnai VM, Macan J. Soluble CD14 and total IgE in the serum of atopic and non-atopic adolescents in relation to environmental factors: a pilot study. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2015;66(1):41-9.
78. Isaza-Guzmán DM, Aristizábal-Cardona D, Martínez-Pabón MC, et al. Estimation of sCD14 levels in saliva obtained from patients with various periodontal conditions. *Oral Dis.* 2008;14(5):450-6.
79. Zhao A, Blackburn C, Chin J, et al. Soluble toll like receptor 2 (TLR-2) is increased in saliva of children with dental caries. *BMC Oral Health.* 2014;14(1):108.
80. Roy A, Ben Lagha A, Gonçalves R, et al. Effects of Saliva From Periodontally Healthy and Diseased Subjects on Barrier Function and the Inflammatory Response in in vitro Models of the Oral Epithelium. *Frontiers in Oral Health.* 2022;2.
81. Biria M, Sattari M, Vahid Golpayegani M, et al. Association of salivary sCD14 concentration levels with early childhood caries. *Iran J Immunol.* 2010;7(3):193-7.

